



**KUALITAS SPERMATOZOA PADA TIKUS WISTAR JANTAN  
DIABETES MELITUS**

**LAPORAN AKHIR PENELITIAN KARYA TULIS ILMIAH**

Diajukan untuk memenuhi tugas dan melengkapi persyaratan dalam menempuh

Program Pendidikan Sarjana Fakultas Kedokteran

**Oleh:**

**OLIVIA VINA FARANITA**

**G2A 005 150**

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS DIPONEGORO  
SEMARANG**

**2009**

**HALAMAN PENGESAHAN**

Laporan Akhir Penelitian Karya Tulis Ilmiah

**KUALITAS SPERMATOZOA PADA TIKUS WISTAR JANTAN**

**DIABETES MELITUS**

OLIVIA VINA FARANTA

G2A 005 150

telah dipertahankan dan disetujui oleh Tim Laporan Akhir Penelitian Karya Tulis Ilmiah Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang pada tanggal 14 Agustus 2009 dan telah diperbaiki sesuai saran yang diberikan

Semarang, 26 Agustus 2009

**TIM PENGUJI**

Ketua Penguji,

Penguji,

Dr. Ika Pawitra Miranti, M.Kes, Sp.PA

NIP. 196 206 171 990 012 010

Dr. Tri Indah Winarni, Msi.Med

NIP. 130 701 145

Pembimbing,

Dr. Lilien Eka Chandra, MRepSc, SpOG

NIP. 131 875 467

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL .....	i
HALAMAN PENGESAHAN .....	ii
DAFTAR ISI .....	iii
DAFTAR TABEL .....	vi
ABSTRAK .....	vii
BAB 1     PENDAHULUAN .....	1
1.1. Latar belakang .....	1
1.2. Perumusan masalah.....	2
1.3. Tujuan penelitian .....	2
1.4. Manfaat penelitian .....	3
BAB 2     TINJAUAN PUSTAKA .....	4
2.1. Organ reproduksi pria .....	4
2.2. Spermatogenesis .....	7
2.3. Spermatozoa .....	8
2.4. Diabetes melitus.....	10
2.5. Infertilitas pada diabetes melitus .....	13
2.6. Kerangka teori .....	15
2.7. Kerangka konsep .....	15
2.8. Hipotesis penelitian .....	16

BAB 3	METODOLOGI PENELITIAN .....	17
3.1.	Ruang lingkup penelitian .....	17
3.2.	Tempat dan waktu penelitian .....	17
3.3.	Jenis penelitian .....	17
3.4.	Populasi dan sampel .....	17
3.4.1.	Populasi.....	17
3.4.2.	Sampel.....	18
3.4.2.1.	Kriteria inklusi.....	18
3.4.2.2.	Kriteria eksklusi.....	18
3.4.2.3.	Besar sampel.....	18
3.4.2.4.	Cara pengambilan sampel.....	19
3.5.	Variabel penelitian .....	19
3.5.1.	Variabel bebas.....	19
3.5.2.	Variabel tergantung.....	19
3.6.	Bahan dan alat .....	20
3.6.1.	Bahan.....	20
3.6.2.	Cara kerja aloksan .....	20
3.6.3.	Alat .....	21
3.7.	Data yang dikumpulkan .....	21
3.8.	Cara pengumpulan data .....	21
3.9.	Definisi operasional .....	22
3.9.1.	Jumlah spermatozoa .....	22
3.9.2.	Morfologi spermatozoa.....	22

	3.9.3. Motilitas spermatozoa .....	23
	3.10. Alur kerja penelitian .....	24
	3.11. Pengolahan dan analisis data .....	25
BAB 4	HASIL PENELITIAN .....	26
	4.1. Jumlah spermatozoa.....	26
	4.2. Motilitas spermatozoa.....	27
	4.2.1. Kriteria A.....	27
	4.2.2 Kriteria B .....	28
	4.2.3 Kriteria C .....	29
	4.2.4 Kriteria D.....	30
	4.3. Morfologi spermatozoa .....	31
BAB 5	PEMBAHASAN.....	33
BAB 6	KESIMPULAN DAN SARAN .....	35
	DAFTAR PUSTAKA .....	36
	LAMPIRAN .....	39

## DAFTAR TABEL

Tabel 4.1.1. Hasil analisis data penelitian jumlah spermatozoa.....	26
Tabel 4.2.1.1. Hasil analisis data penelitian motilitas spermatozoa kriteria A ..	27
Tabel 4.2.2.1. Hasil analisis data penelitian motilitas spermatozoa kriteria B...	28
Tabel 4.2.3.1. Hasil analisis data penelitian motilitas spermatozoa kriteria C...	29
Tabel 4.2.4.1. Hasil analisis data penelitian motilitas spermatozoa kriteria D ..	30
Tabel 4.3.1. Hasil analisis data penelitian morfologi spermatozoa.....	31

## ***The Diabetic Male Wistar Mice Sperm Quality***

***Olivia Vina Faranita\*, Lilien Eka Chandra\*\****

### **ABSTRACT:**

#### **Background:**

*In patients with diabetes mellitus, there is an increment of ROS production which could damage the mitochondrial membrane. This damage cause mitochondria lose its potential function and induce the sperm cell apoptosis. The aim of this research is to understand the influence of diabetes mellitus towards the sperm quality.*

#### **Method:**

*This study is a true experiment using the post test only control group design. Male Wistar mice (n=22) were randomly assigned into two groups: K-group (without aloksan induction), and P-group (with aloksan induction). The treatment was applied for 18 days.*

#### **Result:**

*There was an insignificant difference in the quantity of sperm showed by Mann-Whitney test. However, the sperm motility and morphology, which were calculated using Unpaired T-test, were significantly different.*

#### **Conclusion:**

*Diabetes Mellitus reduce the sperm quality.*

#### **Key Words:**

*Diabetes mellitus, Sperm, ROS*

*\*Faculty of Medicine Diponegoro University student, Semarang*

*\*\* Staff of Biology Department Faculty of medicine Diponegoro University, Semarang*

## Kualitas Spermatozoa pada Tikus Wistar Jantan Diabetes Melitus

Olivia Vina Faranita\*, Lilien Eka Chandra\*\*

### **ABSTRAK:**

#### **Latar Belakang:**

Pada penderita diabetes melitus terjadi peningkatan ROS yang dapat merusak membran mitokondria sehingga menyebabkan hilangnya fungsi potensial membran mitokondria, yang menginduksi apoptosis sel sperma. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh diabetes melitus terhadap kualitas spermatozoa.

#### **Metode:**

Penelitian ini merupakan penelitian yang bersifat true eksperimental dengan pendekatan *post test only control group design*. Subyek penelitian ini ( hewan coba ) adalah 22 tikus wistar jantan yang dibagi secara acak menjadi dua kelompok: kelompok K- yang tidak mendapat induksi aloksan dan kelompok P yang mendapat induksi aloksan. Perlakuan diberikan selama 18 hari.

#### **Hasil:**

Terdapat perbedaan yang tidak signifikan pada jumlah spermatozoa antarkelompok yang ditunjukkan oleh uji *Mann-Whitney*. Terdapat perbedaan yang signifikan pada motilitas dan morfologi spermatozoa antarkelompok yang ditunjukkan oleh uji *Unpaired T Test*.

#### **Kesimpulan:**

Diabetes melitus menurunkan kualitas spermatozoa.

#### **Kata kunci:**

Diabetes melitus, spermatozoa, ROS

\* Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang

\*\* Dosen pengajar bagian Biologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang



## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **1.1. Latar belakang**

Lebih kurang 15% pasangan yang telah menikah mengalami kegagalan dalam memiliki anak. Faktor pria memiliki peran sebanyak 40% dari seluruh kasus, faktor wanita sebanyak 40%, dan faktor keduanya sebanyak 20%. Diabetes melitus sebagai penyakit sistemik merupakan salah satu penyebab infertilitas pada pria.<sup>1</sup>

Indonesia saat ini menjadi negara peringkat empat dengan jumlah penderita diabetes melitus terbesar di dunia setelah Shina, India, dan Amerika. Total penderita diabetes mellitus di Indonesia berdasar data WHO, saat ini sekitar 8 juta jiwa, dan diperkirakan jumlahnya melebihi 21 jiwa pada tahun 2025 mendatang.<sup>2</sup> Tidak hanya usia di atas 50 tahun yang rentan terserang, kelompok usia produktif sekitar 20-30 tahun pun rentan terkena diabetes melitus. Hal ini disebabkan oleh pola hidup yang berubah, di mana orang mengonsumsi berbagai jenis makanan.<sup>3</sup> Diabetes disebutkan dapat menyebabkan impotensi, gangguan ejakulasi, merusak spermatogenesis, dan fungsi kelenjar seks aksesori.<sup>4</sup> Pada penderita diabetes melitus terjadi peningkatan ROS yang dapat merusak membran mitokondria sehingga menyebabkan hilangnya fungsi potensial membran mitokondria, yang menginduksi apoptosis sel sperma.<sup>5,6,7</sup> Selain itu dengan adanya

kerusakan endotel pembuluh darah dapat menyebabkan mikroangiopati yang dapat mengganggu pemberian nutrisi melalui pembuluh darah ke jaringan-jaringan pembentuk spermatozoa sehingga mengganggu spermatogenesis.<sup>8</sup>

Walaupun telah diketahui bahwa diabetes melitus mempengaruhi kualitas spermatozoa pada pria, penulis tetap ingin melakukan penelitian ini sebagai pengalaman dalam menyusun karya tulis ilmiah. Selain itu, kasus diabetes melitus semakin lama menjadi semakin banyak hingga jaman sekarang ini sehingga perlu dilakukan penelitian yang terus menerus untuk memantau perkembangan penyakit ini.

## **1.2. Perumusan masalah**

Apakah diabetes melitus mempengaruhi jumlah, morfologi, dan motilitas spermatozoa pada tikus wistar jantan diabetes melitus?

## **1.3. Tujuan penelitian**

### **1.3.1 Tujuan umum**

Untuk mengetahui apakah diabetes melitus mempengaruhi jumlah, morfologi, dan motilitas spermatozoa pada tikus wistar jantan diabetes melitus.

### **1.3.2 Tujuan khusus**

1. Untuk mengetahui kualitas spermatozoa yang paling terpengaruh oleh diabetes melitus.

2. Untuk mengetahui perubahan motilitas dan morfologi spermatozoa yang terjadi pada diabetes melitus.

#### **1.4. Manfaat penelitian**

1. Memberikan informasi mengenai infertilitas pada pria dalam hubungannya dengan diabetes melitus.
2. Memberikan bahan pertimbangan untuk penelitian lebih lanjut tentang terapi infertilitas pada pria diabetes melitus.

## **BAB 2**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1. Organ reproduksi pria**

Organ reproduksi pria memiliki dua fungsi utama, yaitu pertama, untuk memproduksi hormon androgen yang akan mengatur perkembangan genitalia eksterna dan interna, perkembangan kelamin sekunder pria saat pubertas, dan mengatur libido saat dewasa.<sup>1,9</sup> Kedua, untuk memproduksi kira-kira 30 juta spermatozoa setiap hari selama masa reproduktif.

Organ reproduksi pria terdiri dari testis, duktus genitalis, kelenjar aksesorius, dan penis. Testis normal berbentuk oval dengan ukuran sekitar 4,5 x 3 x 2,5 cm. Testis memiliki dua fungsi, yaitu untuk memproduksi hormon androgen, testosteron dan dihidrotestosteron, dan untuk memproduksi spermatozoa. Spermatozoa dibentuk dari sel germinal primitif di sepanjang dinding tubulus seminiferus dalam proses yang disebut spermatogenesis. Di dalam tubulus seminiferus juga terdapat sel Sertoli yang memiliki fungsi membantu sel germinal dalam memelihara suasana agar sel tersebut dapat berkembang dan menjadi dewasa, mengirimkan sinyal untuk memulai spermatogenesis dan mempertahankan perkembangan spermatid, mengatur fungsi kelenjar pituitari

sekaligus mengontrol spermatogenesis.<sup>10</sup> Di antara tubulus seminiferus terdapat sel Leydig yang memproduksi testosteron dan dihidrotestosteron yang kemudian akan disekresikan ke dalam aliran darah.

Tubulus-tubulus seminiferus tersebut akan bergabung membentuk duktus yang lebih besar yang disebut tubulus rektus. Tubulus yang lebih besar ini membentuk rete testis yang akan berakhir pada duktus efferen. Dalam tubulus-tubulus tersebut mengalir cairan seminalis yang mengandung sperma dari testis ke epididimis. Dari sini spermatozoa memasuki vas deferens lalu duktus ejakulatorius untuk menuju ke urethra.<sup>10</sup>

Testis normal berada di dalam skrotum yang berfungsi melindungi testis dan menjaga agar suhu testis sekitar 1,5 – 2 °C di bawah suhu tubuh.<sup>9</sup> Testis berbentuk oval dan berjumlah sepasang, terdapat di bagian tubuh sebelah kiri dan kanan. Testis kiri dan kanan dibatasi oleh suatu sekat yang terdiri dari serat jaringan ikat dan otot polos. Fungsi testis secara umum merupakan alat untuk memproduksi sperma dan hormon kelamin jantan yang disebut testoteron. Duktus genitalis meliputi epididimis dan vas deferens.<sup>1</sup> Epididimis merupakan saluran berkelok-kelok di dalam skrotum yang keluar dari testis. Epididimis berjumlah sepasang di sebelah kanan dan kiri. Epididimis berfungsi sebagai tempat penyimpanan sementara sperma sampai sperma menjadi matang dan bergerak menuju vas deferens. Vas deferens merupakan saluran lurus yang mengarah ke atas dan merupakan lanjutan dari epididimis. Vas deferens tidak menempel pada testis dan ujung salurannya terdapat di dalam kelenjar prostat. Vas deferens berfungsi sebagai saluran tempat jalannya sperma dari epididimis menuju vesikula

seminalis.<sup>11</sup> Selama ejakulasi, sperma memasuki urethra melalui duktus ejakulatorius yang terletak di badan prostat. Saluran ejakulasi merupakan saluran pendek yang menghubungkan kantung semen dengan urethra. Saluran ini berfungsi untuk mengeluarkan sperma agar masuk ke dalam urethra.

Kelenjar aksesorius meliputi vesikula seminalis, kelenjar bulourethral, dan prostat. Kelenjar-kelenjar ini mensekresi zat-zat makanan bagi spermatozoa dan membantu pengeluaran spermatozoa saat ejakulasi.<sup>1</sup> Vesikula seminalis merupakan kelenjar berlekuk-lekuk yang terletak di belakang kantung kemih. Dinding vesikula seminalis menghasilkan zat makanan yang merupakan sumber makanan bagi sperma. Kelenjar Cowper (kelenjar bulouretra) merupakan kelenjar yang salurannya langsung menuju urethra. Kelenjar Cowper menghasilkan getah yang bersifat alkali (basa).<sup>11</sup> Prostat berbentuk triangular, terletak di pelvis, tepatnya di posterior dan inferior vesika urinaria dekat dengan rektum. Prostat memiliki lobus anterior, medial, posterior, dan 2 lobus lateral. Fungsi dari kelenjar prostat adalah memproduksi cairan prostat yang mengandung kolesterol, garam dan fosfolipid yang merupakan komponen utama dari semen yang bersifat basa.

Penis terbagi menjadi 2 bagian fungsional, yaitu sepasang korpus kavernosum dan korpus spongiosum.<sup>10</sup> Korpus kavernosum membentuk sebagian besar penis, terdiri dari ikatan jaringan otot polos yang terangkai dalam kolagen ekstraseluler matriks. Penis disarafi oleh saraf somatik dan otonom. Saraf somatik menyuplai penis dengan serat sensorik dan menyuplai otot skelet perineum dengan serat motorik.

Skrotum merupakan kantung yang di dalamnya berisi testis. Skrotum berjumlah sepasang, yaitu skrotum kanan dan skrotum kiri.<sup>1</sup> Di antara skrotum kanan dan skrotum kiri dibatasi oleh sekat yang berupa jaringan ikat dan otot polos (otot dartos). Otot dartos berfungsi untuk menggerakkan skrotum sehingga dapat mengerut dan mengendur. Di dalam skrotum juga terdapat serat-serat otot yang berasal dari penerusan otot lurik dinding perut yang disebut otot kremaster. Otot ini bertindak sebagai pengatur suhu lingkungan testis agar kondisinya stabil. Proses spermatogenesis membutuhkan suhu yang stabil, yaitu beberapa derajat lebih rendah daripada suhu tubuh.

## **2.2. Spermatogenesis**

Spermatogenesis adalah proses berkelanjutan dari pembelahan sel germinal untuk menghasilkan spermatozoa yang dimulai dari masa pubertas.<sup>10</sup> Spermatogenesis terjadi di dalam semua tubulus seminiferus selama kehidupan seksual aktif, sebagai akibat dari rangsangan hormon gonadotropin hipofisis anterior. Dimulai rata-rata pada usia 13 tahun dan berlanjut seumur hidup.

Proses spermatogenesis dibagi menjadi beberapa tahap, yaitu proliferasi mitotik, meiosis, dan spermiogenesis.<sup>12</sup> Pada tahap awal spermatogenesis, spermatogonia primitif berkumpul di tepi membran basal epitel germinativum, disebut sebagai spermatogonia tipe A.<sup>13</sup> Spermatogonia tersebut membelah menjadi sel yang sedikit lebih berdiferensiasi, yaitu spermatogonia tipe B. Pada tahap ini spermatogonia bermigrasi ke arah sentral di antara sel-sel

sertoli. Dalam waktu kira-kira 24 hari setiap spermatogonium yang melewati lapisan pertahanan masuk ke dalam lapisan sel Sertoli dimodifikasi secara berangsur-angsur dan membesar untuk membentuk spermatozit primer yang besar dengan 46 kromosom. Pada akhir hari ke-24, setiap spermatosit primer terbagi dua menjadi spermatosit sekunder. Proses ini disebut sebagai meiosis pertama.

Dalam 2 sampai 3 hari meiosis kedua terjadi menghasilkan spermatid yang memiliki 23 kromosom tunggal.<sup>12,13</sup> Setelah fase meiosis selesai, tidak lagi terjadi pembelahan sel. Setiap spermatid mengalami modifikasi menjadi sebuah spermatozoa yang disebut sebagai fase spermiogenesis. Selama beberapa minggu berikutnya setelah meiosis, setiap spermatid secara perlahan-lahan berubah menjadi spermatozoa dengan (1) menghilangkan beberapa sitoplasmanya, (2) mengatur kembali bahan kromatin dari inti spermatid untuk membentuk satu kepala yang padat, dan (3) mengumpulkan sisa sitoplasma dan membran sel pada salah satu ujung dari sel untuk membentuk ekor. Seluruh masa spermatogenesis ini membutuhkan waktu kira-kira 64 hari.

### **2.3. Spermatozoa**

Ketika spermatid dibentuk pertama kali, spermatid tetap memiliki sifat-sifat yang biasa dari sel-sel epiteloid.<sup>13</sup> Tetapi segera setelah spermatid mulai memanjang menjadi spermatozoa, spermatozoa terdiri atas kepala, akrosom, bagian tengah, dan ekor.<sup>12</sup> Kepala terutama dari nukleus yang mengandung informasi genetik sperma, terdiri atas sel berinti padat dengan hanya sedikit sitoplasma dan lapisan membran sel di sekitar permukaannya. Di bagian luar, dua



pertiga anterior kepala terdapat selubung tebal yang disebut akrosom. Akrosom mengandung enzim hialuronidase yang dapat mencerna filamen proteoglikan dari jaringan dan dapat mencerna protein sehingga dapat digunakan sebagai “bor enzimatik” untuk menembus ovum.<sup>12,13</sup> Akrosom dibentuk dari agregasi vesikel-vesikel yang dihasilkan oleh kompleks Golgi / retikulum endoplasma sebelum organel-organel ini dibuang. Mobilitas spermatozoa dihasilkan oleh ekor yang panjang dan berbentuk seperti pecut yang keluar dari salah satu sentriol. Ekor spermatozoa memiliki tiga komponen, yaitu aksonema yang serupa dengan silia, membran sel tipis yang menutupi aksonema, dan mitokondria yang mengelilingi aksonema di bagian proksimal ekor ( badan ekor ). Gerakan ekor mendekat dan menjauh memberikan motilitas pada spermatozoa. Gerakan ini disebabkan oleh gerakan meluncur longitudinal secara ritmis di antara tubulus posterior dan anterior yang membentuk aksonema. Energi untuk proses ini disuplai dalam bentuk adenosin trifosfat yang disintesis oleh mitokondria pada badan ekor. Spermatozoa normal bergerak dalam garis lurus dengan kecepatan 1 sampai 4 mm/menit. Lebih jauh lagi, spermatozoa yang normal cenderung untuk bergerak lurus, daripada dalam gerakan berputar-putar.

Dalam satu kali ejakulasi rata-rata jumlah spermatozoa adalah 400 juta dengan jumlah semen 3,5 ml.<sup>14</sup> Ketika jumlah spermatozoa dalam setiap mililiter turun kira-kira di bawah 20 juta, maka orang tersebut hampir mengalami infertilitas. Kadang-kadang orang memiliki jumlah spermatozoa yang normal tetapi tetap infertil. Bila hal ini terjadi, sering ditemui hampir separuh dari jumlah spermatozoanya memiliki kelainan morfologi seperti memiliki dua kepala, bentuk

kepala yang tidak normal, atau ekor yang tidak normal. Di saat yang lain spermatozoa terlihat normal secara struktural tetapi dengan alasan yang tidak dimengerti spermatozoa tersebut seluruhnya tidak motil atau relatif tidak motil. Bila sebagian besar spermatozoa secara morfologis mengalami kelainan atau tidak motil, maka orang tersebut hampir infertil, walaupun sisa spermatozoa lainnya terlihat normal.

#### **2.4. Diabetes melitus**

Diabetes Melitus merupakan keadaan hiperglikemia kronik yang terjadi karena kelainan sekresi insulin, kerja insulin atau kedua-duanya disertai berbagai kelainan metabolik akibat gangguan hormonal, yang menimbulkan berbagai komplikasi kronik pada mata, ginjal, saraf, dan pembuluh darah, disertai lesi pada membran basalis dalam pemeriksaan dengan mikroskop elektron.<sup>15</sup>

Di antara penyakit degeneratif, diabetes adalah salah satu di antara penyakit tidak menular yang akan meningkat jumlahnya di masa datang. Diabetes sudah merupakan salah satu ancaman utama bagi kesehatan umat manusia pada abad 21. WHO membuat perkiraan bahwa pada tahun 2000 jumlah pengidap diabetes di atas umur 20 tahun berjumlah 150 juta orang dan dalam kurun waktu 25 tahun kemudian, pada tahun 2025, jumlah itu akan membengkak menjadi 300 juta orang.<sup>16</sup> Meningkatnya prevalensi diabetes melitus di negara berkembang diakibatkan oleh perubahan gaya hidup.<sup>3</sup>

*Insulin Dependent Diabetes Mellitus* ( IDDM ) atau Diabetes Melitus Tergantung Insulin ( DMTI ) disebabkan oleh destruksi sel  $\beta$  pulau Langerhans

akibat proses autoimun. Sedangkan *Non Insulin Dependent Diabetes Mellitus* ( NIDDM ) atau Diabetes Melitus Tidak Tergantung Insulin ( DMTTI ) disebabkan kegagalan relatif sel  $\beta$  dan resistensi insulin. Resistensi insulin adalah turunnya kemampuan insulin untuk merangsang pengambilan glukosa oleh jaringan perifer dan untuk menghambat produksi glukosa oleh hati. Sel  $\beta$  tidak mampu mengimbangi resistensi insulin ini sepenuhnya, artinya terjadi defisiensi relatif insulin.<sup>15</sup>

Diagnosis klinis diabetes umumnya akan dipikirkan bila ada gejala khas berupa polifagia, poliuria, polidipsia, dan penurunan berat badan yang tidak dapat dijelaskan sebabnya.<sup>15,16</sup> Gejala lain yang mungkin dikeluhkan adalah lemah, kesemutan, gatal, mata kabur, dan disfungsi ereksi pada pria. Kadar glukosa darah sewaktu dan puasa dengan metode enzimatik digunakan sebagai patokan penyaring dan diagnosis DM. Bila didapatkan kadar glukosa darah sewaktu  $\geq 200$  mg/dl dan kadar glukosa darah puasa  $\geq 126$  mg/dl sudah cukup untuk menegakkan diagnosis diabetes melitus.<sup>16</sup>

Pada saat makanan masuk ke dalam tubuh kita, glukosa akan diabsorpsi oleh darah. Kemudian oleh kerja insulin glukosa dibawa ke hati untuk disimpan dalam bentuk glikogen. Akan tetapi pada kondisi diabetes melitus terjadi gangguan fungsi insulin sehingga glukosa banyak menumpuk di dalam darah. Keadaan ini disebut sebagai hiperglikemi.<sup>13</sup> Salah satu tanda khas dari diabetes melitus adalah adanya hiperglikemi dan defisiensi insulin relatif maupun absolut. Keadaan ini mampu mempengaruhi berbagai struktur maupun fungsi

jaringan, termasuk struktur dan berbagai protein di dalam sel. Hiperglikemi akan meningkatkan *reactive oxygen spesies* ( ROS ).<sup>17</sup>

Melalui jalur peningkatan sintesa glukose 6-fosfat akan dilanjutkan dengan peningkatan produksi fruktose 1,6-bisfosfat yang akan mendorong peningkatan sintesa glukosamine, dihidroksiaseton dan gliseraldehyde. Peningkatan dehidrooksiaseton akan diikuti dengan peningkatan gliserol 3-fosfat, diasilgliserol (DAG) dan aktivasi protein PKC yang seterusnya meningkatkan produksi ROS. Peningkatan sintesa gliseraldehyde 3-fosfat diikuti dengan meningkatnya produksi enediol, 1,3-bisfosfoglisarat dan metiglioksal. Pembentukan enediol akan diikuti pembentukan  $\alpha$ -ketoaldehid, sedangkan peningkatan 1,3-bisfosfoglisarat akan diikuti dengan peningkatan pembentukan piruvat, sedangkan meningkatnya metiglioksal akan diikuti peningkatan proses glikasi. Baik  $\alpha$ -ketoaldehid, piruvat dan proses glikasi akan meningkatkan pembentukan ROS. Hal ini merupakan salah satu penjelasan yang dapat menerangkan pengaruh hiperglikemi pada jaringan maupun sel.<sup>17</sup>

Beberapa ROS yang berperan dalam reproduksi adalah superoksida (  $O_2^-$  ), hidrogen peroksida (  $H_2O_2$  ), peroksil (  $ROO^-$  ), hidroksil (  $OH^-$  ), dan nitrit oksida (  $NO$  ).<sup>18</sup> Stres oksidatif terjadi jika ada peningkatan pembentukan radikal bebas dan menurunnya sistem penetralan dan pembuangan radikal bebas tersebut. Pembentukan ROS yang berlebihan akan merusak enzim-enzim yang berfungsi sebagai anti oksidan radikal bebas.

## **2.5. Infertilitas pada diabetes melitus**

Stres oksidatif yang terjadi pada diabetes melitus berkaitan erat dengan infertilitas karena memiliki pengaruh yang cukup besar terhadap disfungsi sperma.<sup>19</sup> Sebanyak 40,88% pasien pria yang infertil memiliki sperma dengan kadar ROS yang tinggi. Pembentukan ROS sebenarnya merupakan proses fisiologi tubuh, namun apabila terjadi peningkatan yang berlebihan maka akan dapat berpengaruh negatif terhadap tubuh.

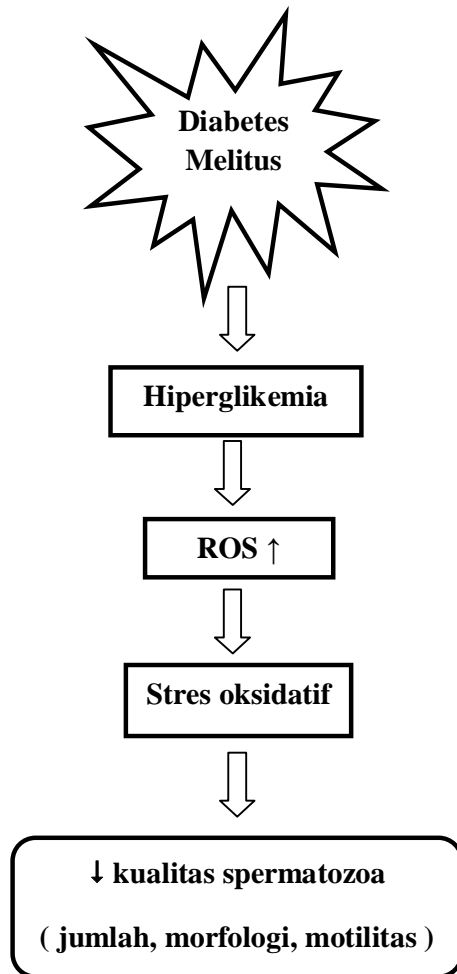
Stres oksidatif merusak integritas DNA pada nukleus spermatozoa sehingga akan menginduksi terjadinya apoptosis sel. Apoptosis adalah kematian sel terprogram dimana proses ini merupakan proses fisiologis yang ditentukan oleh perubahan morfologi dan biokimia sel. Proses ini diregulasi oleh faktor intrinsik dan ekstrinsik dan dapat dirangsang oleh berbagai stimulus. Faktor ekstrinsik yang paling potensial pada apoptosis sel di testis adalah radiasi, kemoterapi, dan toksin seluler.<sup>19</sup>

Peningkatan ROS dapat merusak membran mitokondria sehingga menghilangkan fungsi potensial membran mitokondria sehingga menginduksi terjadinya apoptosis.<sup>5</sup> Pada pria infertil ditemukan adanya peningkatan apoptosis sel, yang pada akhirnya menyebabkan turunnya jumlah spermatozoa.<sup>19</sup>

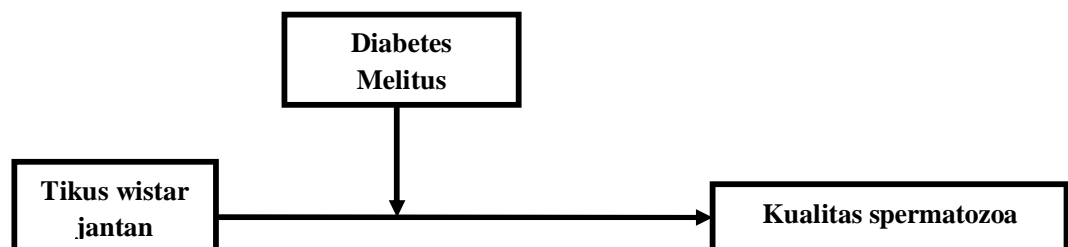
Stres oksidatif berperan sebagai mediator kerusakan pada membran plasma, sehingga mengurangi fungsi spermatozoa. Stres oksidatif menginduksi kerusakan DNA yang mempercepat apoptosis sel epitel germinal, sehingga menurunkan hitung jumlah spermatozoa dan menyebabkan perubahan morfologi

spermatozoa.<sup>20</sup> Energi untuk motilitas spermatozoa disuplai dalam bentuk adenosin trifosfat yang disintesis oleh mitokondria pada badan ekor. Sehingga apabila terjadi kerusakan pada membran mitokondria akan dapat mengganggu motilitas spermatozoa.

## 2.6. Kerangka teori



## 2.7. Kerangka konsep



## **2.8. Hipotesis penelitian**

Terdapat penurunan kualitas spermatozoa pada tikus wistar jantan diabetes melitus.



## **BAB 3**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **3.1. Ruang lingkup penelitian**

Ruang lingkup keilmuan penelitian ini meliputi bidang biologi, biokimia, dan fisiologi.

#### **3.2. Tempat dan waktu penelitian**

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang dengan rentang waktu sekitar Mei – Juni 2009.

#### **3.3. Jenis penelitian**

Jenis penelitian ini adalah penelitian *true eksperimental* dengan pendekatan *post test only control group design*.

#### **3.4. Populasi dan sampel**

##### **3.4.1. Populasi**

Populasi penelitian ini adalah tikus wistar jantan yang diperoleh dari Lembaga Penelitian dan Pengujian Terpadu ( LPPT ) UGM Yogyakarta dan

ditempatkan di Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang.

#### 3.4.2. Sampel

Sampel penelitian ini adalah tikus wistar jantan yang memenuhi kriteria penelitian sebagai berikut ini:

##### 3.4.2.1. Kriteria inklusi

1. Tikus wistar jantan
2. Umur sekitar 3 bulan
3. Berat badan 200 – 300 gram

##### 3.4.2.2. Kriteria eksklusi

1. Tikus tampak sakit, tidak bergerak secara aktif
2. Tikus mati dalam penelitian

##### 3.4.2.3. Besar sampel

Besar sampel yang akan digunakan ditentukan dengan rumus :

$$t ( n - 1 ) \geq 20$$

Keterangan :

t : jumlah perlakuan

n : jumlah ulangan

Dalam penelitian ini tikus wistar jantan dibagi menjadi 2 kelompok sehingga didapatkan besar sampel tiap kelompok sebanyak 11 ekor.

#### 3.4.2.4 Cara Pengambilan Sampel

Untuk menghindari bias penelitian karena faktor variasi umur dan berat badan, maka dilakukan pengelompokan sample secara acak sederhana (*Simple Random Sampling*).

### 3.5. Variabel penelitian

#### 3.5.1. Variabel bebas

Sebagai variabel bebas adalah induksi aloksan.

#### 3.5.2. Variabel tergantung

Sebagai variabel tergantung adalah jumlah, morfologi, dan motilitas spermatozoa.

### **3.6. Bahan dan alat**

#### **3.6.1. Bahan**

1. Tikus wistar jantan
2. Aloksan
3. Bahan untuk pemeriksaan jumlah, morfologi, dan motilitas spermatozoa
4. Bahan makanan dan minuman tikus

#### **3.6.2. Cara kerja aloksan**

Aloksan merupakan bahan kimia yang digunakan untuk menginduksi diabetes. Efek diabetogeniknya bersifat antagonis dengan glutathione yang bereaksi dengan gugus SH-nya. Beberapa hipotesis tentang mekanisme aksi yang telah diajukan antara lain: pembentukan khelat terhadap Zn, interferensi dengan enzim-enzim sel serta deaminasi dan dekarboksilasi asam amino. Penelitian terhadap mekanisme kerja aloksan secara invitro menunjukkan bahwa aloksan menginduksi pengeluaran ion kalsium dari mitokondria yang mengakibatkan proses oksidasi sel terganggu. Keluarnya ion kalsium dari mitokondria ini mengakibatkan gangguan homeostasis yang merupakan awal dari kematian sel.<sup>21</sup> Pada penelitian sebelumnya dikatakan bahwa aloksan dapat menyebabkan kondisi diabetik eksperimental (hiperglikemik) dengan cepat pada binatang coba dengan dosis 120-150mg/kgBB.<sup>22,23</sup>

### 3.6.3. Alat

1. Kandang hewan coba
2. Timbangan
3. Mikroskop cahaya dengan sumber arus listrik
4. Alat untuk pemeriksaan spermatozoa (bilik hitung Neubauer, object glass, pipet eritrosit, cawan petri, pipet tetes)
5. Tempat pakan

### 3.7. Data yang dikumpulkan

Data yang dikumpulkan dalam penelitian ini adalah data primer, yaitu berupa jumlah, morfologi, dan motilitas spermatozoa tikus wistar jantan.

### 3.8. Cara pengumpulan data

Penelitian ini menggunakan sampel sebanyak 22 ekor tikus wistar jantan yang diadaptasi dengan pakan standart *ad libitum* selama 13 hari. Pada hari ke-14 tikus dikelompokkan menjadi 2 kelompok dengan 11 tikus sebagai pengulangan. 11 ekor tikus pertama dikelompokkan sebagai kontrol negatif dengan diberi pakan standart. Sedangkan 11 ekor lainnya diberi injeksi aloksan 125 mgr/kgBB selama 18 hari pada 3 hari pertama dari hari ke-14 sampai hari ke-32 untuk mencapai kondisi diabetes melitus dan selanjutnya diberi pakan standart.

Kondisi diabetes melitus ditentukan dengan pemeriksaan kadar glukosa darah pada hari ke-32. Tikus wistar jantan kemudian diterminasi pada hari ke-33 dengan menggunakan *ether* untuk dilakukan pemeriksaan terhadap jumlah, morfologi, dan motilitas spermatozoa. Sampel diambil dari vas deferens tikus. Vas deferens dipotong kedua ujungnya kemudian diletakkan di cawan yang berisi pengencer NaCl 0,9%. Sperma didapatkan dengan mengurut saluran vas deferens tersebut kemudian diaduk agar sperma menjadi homogen. Sebelum penelitian ini dilakukan penulis telah mendapat *training* dan selama penelitian berlangsung berada di bawah pengawasan staf ahli laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang.

### **3.9. Definisi operasional**

#### **3.9.1. Jumlah spermatozoa**

Jumlah spermatozoa adalah banyaknya spermatozoa yang dihitung dari rerata 5 lapangan pandang di bawah mikroskop dengan lensa obyektif perbesaran 40x.

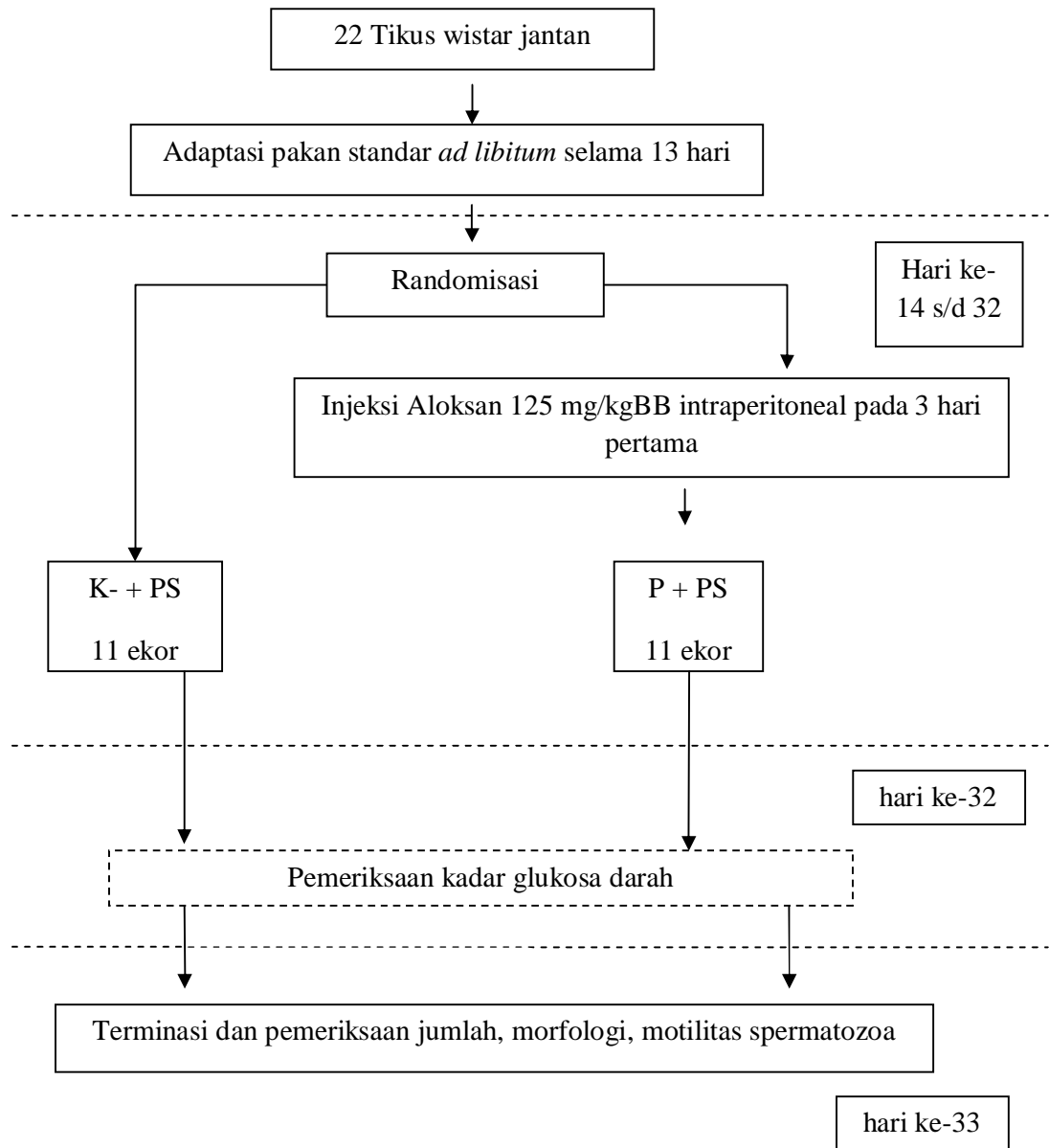
#### **3.9.2. Morfologi spermatozoa**

Morfologi spermatozoa adalah bentuk spermatozoa yang diamati dalam 200 spermatozoa di bawah mikroskop dengan lensa obyektif perbesaran 40x.

### 3.9.3. Motilitas spermatozoa

Motilitas spermatozoa adalah gerakan spermatozoa yang diamati dari rerata 5 lapangan pandang di bawah mikroskop dengan lensa obyektif perbesaran 40x. Terdapat 4 kriteria dalam penilaian morfologi spermatozoa, yaitu: A (gerak cepat), B (gerak lamban), C (gerak di tempat), D (tidak bergerak).

### 3.10. Alur kerja penelitian





### **3.11 Pengolahan dan analisis data**

Data yang diperoleh diolah dengan program komputer *SPSS for Windows*. Data tersebut diuji normalitasnya dengan uji *Saphiro-Wilk*. Jika didapatkan distribusi data yang normal, maka dilakukan uji beda menggunakan uji statistik parametrik *Unpaired T Test*. Sedangkan jika didapatkan distribusi data yang tidak normal, maka dilakukan uji statistik non parametrik *Mann-Whitney*.

## BAB 4

### HASIL PENELITIAN

#### 4.1. Jumlah spermatozoa

Data jumlah spermatozoa didapatkan dengan deskripsi sebagai berikut :

**Tabel 4.1.1. Hasil analisis data penelitian jumlah spermatozoa**

Kelompok	Mean	SD	Nilai min	Nilai max
K	2,09	1,814	0	6
P	1,91	2,166	0	7

Kelompok	Tes normalitas	Tes Mann-Whitney
K	0,297	0,588
P	0,002	
	$p \geq 0,05$	$p \leq 0,05$

Terdapat penurunan rerata jumlah spermatozoa dari kelompok kontrol negatif ke kelompok perlakuan.

K: kontrol negatif

P: perlakuan

Dengan uji *Shapiro-Wilk* menunjukkan data terdistribusi tidak normal. Kemudian dilanjutkan dengan uji nonparametrik *Mann-Whitney*, yang menunjukkan terdapat perbedaan yang tidak signifikan ( $p=0,588$ ) pada jumlah spermatozoa antarkelompok.

## 4.2. Motilitas Spermatozoa

Data motilitas spermatozoa didapatkan dengan deskripsi sebagai berikut :

### 4.2.1. Kriteria A

**Tabel 4.2.1.1. Hasil analisis data penelitian motilitas spermatozoa kriteria A**

Kelompok	Mean	SD	Nilai min	Nilai max
K	13,3282	1,93482	9,17	15,83
P	1,6664	1,18016	0,00	4,17

Kelompok	Tes normalitas	T-Test
K	0,295	0,000
P	0,258	
	$p \geq 0,05$	$p \leq 0,05$

K: kontrol negatif

P: perlakuan

Terdapat penurunan rerata motilitas spermatozoa kriteria A dari kelompok kontrol negatif ke kelompok perlakuan.

Dengan uji *Shapiro-Wilk* menunjukkan data terdistribusi normal. Kemudian dilanjutkan dengan uji parametrik *Unpaired T Test*, yang menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan ( $p=0,000$ ) pada motilitas spermatozoa kriteria A antarkelompok.

#### 4.2.2. Kriteria B

**Tabel 4.2.2.1. Hasil analisis data penelitian motilitas spermatozoa kriteria B**

Kelompok	Mean	SD	Nilai min	Nilai max
K	61,5927	17,11580	16,67	71,67
P	9,0918	2,94665	5,83	14,17

Kelompok	Tes normalitas	Tes Mann-Whitney
K	0,000	0,000
P	0,041	
	$p \geq 0,05$	$p \leq 0,05$

Terdapat penurunan rerata motilitas spermatozoa kriteria B dari kelompok kontrol negatif ke kelompok perlakuan.

K: kontrol negatif

P: perlakuan

Dengan uji *Shapiro-Wilk* menunjukkan data terdistribusi tidak normal. Kemudian dilanjutkan dengan uji nonparametrik *Mann-Whitney*, yang menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan ( $p=0,000$ ) pada motilitas spermatozoa kriteria B antarkelompok.

#### 4.2.3. Kriteria C

**Tabel 4.2.3.1. Hasil analisis data penelitian motilitas spermatozoa kriteria C**

Kelompok	Mean	SD	Nilai min	Nilai max
K	14,5473	9,69926	6,67	37,50
P	36,4400	11,90409	22,50	61,67

Kelompok	Tes normalitas	Tes Mann-Whitney
K	0,001	0,001
P	0,409	
	$p \geq 0,05$	$p \leq 0,05$

Terdapat peningkatan rerata motilitas spermatozoa kriteria C dari kelompok kontrol negatif ke kelompok perlakuan.

Dengan uji *Shapiro-Wilk* menunjukkan data terdistribusi tidak normal. Kemudian dilanjutkan dengan uji nonparametrik *Mann-Whitney*, yang menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan ( $p=0,001$ ) pada motilitas spermatozoa kriteria C antarkelompok.

#### 4.2.4. Kriteria D

**Tabel 4.2.4.1. Hasil analisis data penelitian motilitas spermatozoa kriteria D**

Kelompok	Mean	SD	Nilai min	Nilai max
K-	10,3027	9,44609	5,00	36,67
P	52,8036	13,27572	21,67	70,00

Kelompok	Tes normalitas	Tes Mann-Whitney
K-	0,000	0,000
P	0,237	
	$p \geq 0,05$	$p \leq 0,05$

Terdapat peningkatan rerata motilitas spermatozoa kriteria D dari kelompok kontrol negatif ke kelompok perlakuan.

Dengan uji *Shapiro-Wilk* menunjukkan data terdistribusi tidak normal. Kemudian dilanjutkan dengan uji nonparametrik *Mann-Whitney*, yang menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan ( $p=0,000$ ) pada motilitas spermatozoa kriteria D antarkelompok.

#### 4.3. Morfologi Spermatozoa

Data morfologi spermatozoa didapatkan dengan deskripsi sebagai berikut :

**Tabel 4.3.1. Hasil analisis data penelitian morfologi spermatozoa**

Kelompok	Mean	SD	Nilai min	Nilai max
K	1,91	1,700	0	5
P	4,27	1,489	2	7

Kelompok	Tes normalitas	T-Test
K	0,256	0,002
P	0,361	
	$p \geq 0,05$	$p \leq 0,05$

Terdapat peningkatan rerata morfologi spermatozoa dari kelompok kontrol negatif ke kelompok perlakuan.

Dengan uji *Shapiro-Wilk* menunjukkan data terdistribusi normal. Kemudian dilanjutkan dengan uji parametrik *Unpaired T Test*, yang menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan ( $p=0,002$ ) pada morfologi spermatozoa antarkelompok.



## **BAB 5**

### **PEMBAHASAN**

Hasil rata-rata kadar glukosa darah tikus adalah 104,65 mg/dl. Bila dibandingkan dengan kadar normal glukosa darah tikus, yaitu 50-135 mg/dl<sup>24</sup>, dapat disimpulkan bahwa tikus yang diberi induksi aloksan ternyata kurang mencapai kondisi diabetes melitus. Hal ini disebabkan dosis yang diberikan, yaitu 125mg/kgBB yang memacu kepada penelitian sebelumnya adalah untuk mencit Balb/c sehingga pada tikus wistar belum dapat memberikan kondisi diabetes melitus secara menyeluruh. Di samping itu didapatkan kurang lamanya paparan pada penelitian ini sehingga hasil yang diperoleh belum secara maksimal.

Hasil penelitian menunjukkan adanya penurunan motilitas spermatozoa kriteria A dan B pada kelompok kontrol negatif dan kelompok perlakuan. Hal ini disebabkan oleh karena banyaknya spermatozoa yang hanya bergerak di tempat atau bahkan tidak bergerak yang dikategorikan dalam kriteria C dan D. Analisis data statistik menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan dalam penurunan tersebut ( $p \geq 0,05$ ). Selain itu juga didapatkan penurunan jumlah spermatozoa dan penurunan morfologi spermatozoa normal. Di antara 3 hal yang diamati tersebut penulis menemukan bahwa motilitas spermatozoa adalah yang paling terpengaruh oleh keadaan diabetes melitus.

Induksi aloksan menyebabkan kerusakan pada sel-sel pankreas sehingga mengganggu produksi insulin dan menyebabkan glukosa banyak tertimbun di dalam darah. Keadaan ini disebut sebagai hiperglikemi.<sup>13</sup>

Hiperglikemi akan meningkatkan *reactive oxygen spesies* ( ROS ).<sup>17</sup> Stres oksidatif merupakan hasil dari ketidakseimbangan antara produksi dan eliminasi ROS, dimana terjadi peningkatan pembentukan ROS tanpa diimbangi eliminasinya oleh antioksidan dalam tubuh.<sup>25</sup> Pembentukan ROS sebenarnya merupakan proses fisiologi tubuh, namun apabila terjadi peningkatan yang berlebihan maka akan menimbulkan stres oksidatif. Peningkatan ROS dapat merusak membran mitokondria sehingga menyebabkan hilangnya fungsi potensial membran mitokondria, yang menginduksi apoptosis sel sperma.<sup>5</sup>

ROS juga merusak integritas DNA pada nukleus spermatozoa sehingga akan menginduksi terjadinya apoptosis sel. Apoptosis sel tersebut mempengaruhi jumlah spermatozoa dan menyebabkan perubahan morfologi spermatozoa terutama pada saat spermatogenesis. Dalam penelitian ini terlihat perbedaan morfologi antara spermatozoa yang normal (kepala berbentuk kait) dan spermatozoa yang abnormal (kepala berbentuk lurus). Energi untuk motilitas spermatozoa disuplai dalam bentuk adenosin trifosfat yang disintesis oleh mitokondria pada badan ekor. Sehingga apabila terjadi kerusakan pada membran mitokondria akan dapat mengganggu motilitas spermatozoa. Dalam penelitian ini yang paling banyak ditemukan adalah motilitas kriteria C dan D, yaitu bergerak ditempat dan tidak bergerak.

Berdasar analisis statistik penurunan jumlah spermatozoa yang diperoleh tidak signifikan, hal ini disebabkan oleh kurangnya ketelitian dalam penghitungan spermatozoa oleh penulis.

## **BAB 6**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **6.1. Kesimpulan**

1. Induksi aloksan untuk mencapai kondisi diabetes melitus dalam waktu 18 hari menurunkan jumlah, motilitas, dan morfologi spermatozoa.
2. Kualitas spermatozoa yang paling terpengaruh adalah motilitas spermatozoa
3. Pada morfologi spermatozoa didapatkan kepala berbentuk lurus dan pada motilitas spermatozoa yang paling banyak ditemukan adalah bergerak di tempat dan tidak bergerak.

#### **6.2. Saran**

1. Diharapkan dapat dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh diabetes melitus terhadap viabilitas spermatozoa, yaitu kemampuan bertahan hidup pada spermatozoa karena pada saat penelitian penulis menemukan bahwa viabilitas spermatozoa pada tikus diabetes melitus mengalami penurunan yang sangat cepat.
2. Diharapkan agar pada penelitian selanjutnya lebih teliti lagi dalam penghitungan jumlah spermatozoa.

## DAFTAR PUSTAKA

1. David G, Dolores S. Greenspan's Basic and Clinical Endocrinology 8th Edition. Lange McGraw-Hill; 2007. Available from: pf MED:CINE
2. Irawati D. Indonesia Peringkat Empat Dunia Pasien Diabetes. Kompas 2008 Oktober 16
3. Sinombor SH. Diabetes Melitus Incar Usia Produktif. Kompas 2008 Agustus 30
4. Anton DW. Infertilitas Pria. 2008. Available from: <http://www.klinikandrologi.blogspot.com/2008/06/infertilitas-pria.html>
5. Yang J, Liu X, Bhalla K, Kim CN, Ibrado AM, Cai J, et al. *Prevention of apoptosis by bcl-2: release of cytochrome c from mitochondria blocked.* Science 1997; 275: 1129-32
6. Dumas JF, Simard G, Flamment M, Ducluzeau PH, Ritz P. *Is skeletal muscle mitochondrial dysfunction a cause or an indirect consequence of insulin resistance in humans?*. [Diabetes Metab] 2009 Jun; Vol. 35 (3), pp. 159-67
7. Chandrashekar KN; Muralidhara. *Evidence of oxidative stress and mitochondrial dysfunctions in the testis of prepubertal diabetic rats.* [Int J Impot Res] 2009 May-Jun; Vol. 21 (3), pp. 198-206
8. Combs GF Jr. *The vitamins fundamental aspects in nutrition and health*, 2nd ed. California: Academic Press, 1998: 138-9, 190-211, 262-3, 449-50

9. McPhee JS, Ganong WF. Pathophysiology of disease 5th edition. USA: McGraw-Hill; 2003
10. Patricia E. Lange Endocrine Physiology 2nd Edition. Lange McGraw-Hill; 2007. Available from: pf MED:CINE
11. Gurungeblok. Sistem Reproduksi Pada Manusia – Pria. 31 Oktober 2008. Available from: <http://gurungeblog.wordpress.com/2008/10/31/sistem-reproduksi-pada-manusia-pria/>
12. Sherwood L. Fisiologi Manusia dari Sel ke Sistem Edisi 2. Jakarta: EGC; 2001
13. Guyton AC, Hall EJ. Buku ajar fisiologi kedokteran. Ed. 9, Editor : Setiawan I, Jakarta : EGC, 1996
14. Nieschlag E, Behre HM, editors. Andrology male reproductive health dysfunction. 2<sup>nd</sup> ed. Berlin: Springer, 2000
15. Mansjoer A, Triyanti K, Savitri R, Wardhani WI, Setiowulan W, editor. Kapita Selekta Kedokteran Jilid 1 Edisi 3. Jakarta: Media Aesculapius FKUI, 2000: 580
16. Sudoyo AW, Setyohadi B, Alwi I, Simadibrata KM, Setiati S, editor. Buku ajar ilmu penyakit dalam. Jakarta: Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI, 2007: 1852-1859
17. Rudijanto A, Kalim H. *Pengaruh Hiperglikemi Terhadap Peran Sitoskeleton ( Cytoskeleton ) Sebagai Jalur Transduksi Ginjal ( Signal Transduction )*. Bagian Ilmu Penyakit Dalam FK Universitas Brawijaya Malang 2006; 7: 243-257

18. Sikka SC. *Oxidative stress and role of antioxidants in normal and abnormal sperm function*. [Front Biosci] 1996; 1: 78-86
19. Hammam NR. *Pengaruh Pemberian Minyak Jintan Hitam (Nigella Sativa) Terhadap Jumlah Spermatozoa Mencit Diabetes Melitus Yang Diinduksi Aloksan*. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. 2008
20. Bashandy AES. *Effect of fixed oil Nigella sativa on male fertility in normal and hyperlipidemic rats*. [Int J Pharmacol] 2007; 3: 27-33
21. Suharmiati. *Pengujian Bioaktivitas Anti Diabetes Mellitus Tumbuhan Obat*. Surabaya: Cermin Dunia Kedokteran, 2003
22. Nugroho BA, Puwaningsih E. *Pengaruh Diet Ekstrak Rumput Laut (Eucheuma sp.) terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Putih ( Rattus norvegicus ) Hiperglikemik*. Media Medika Indonesia Vol.39 No. 3, 2004 : 154 – 60
23. Nugroho BA, Puwaningsih E. *Perbedaan Diet Ekstrak Rumput Laut (Eucheuma sp) dan Insulin dalam Menurunkan Kadar Glukosa Darah Tikus Putih ( Rattus norvegicus ) Hiperglikemik*. Media Medika Indonesia Vol. 41 No. 1, 2006 : 23-30
24. Kusumawati, D. *Bersahabat dengan Hewan Coba Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press, 2004
25. Suryohudoyo, P. *Kapita Selekta Ilmu Biologi Molekuler*. Jakarta: CV. SAGUNG SETO, 2000

## LAMPIRAN

### Jumlah Spermatozoa

Case Processing Summary

		Cases					
		Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
jumlah spermatozoa tikus	Kontrol	11	100.0%	0	.0%	11	100.0%
	Perlakuan	11	100.0%	0	.0%	11	100.0%

Descriptives

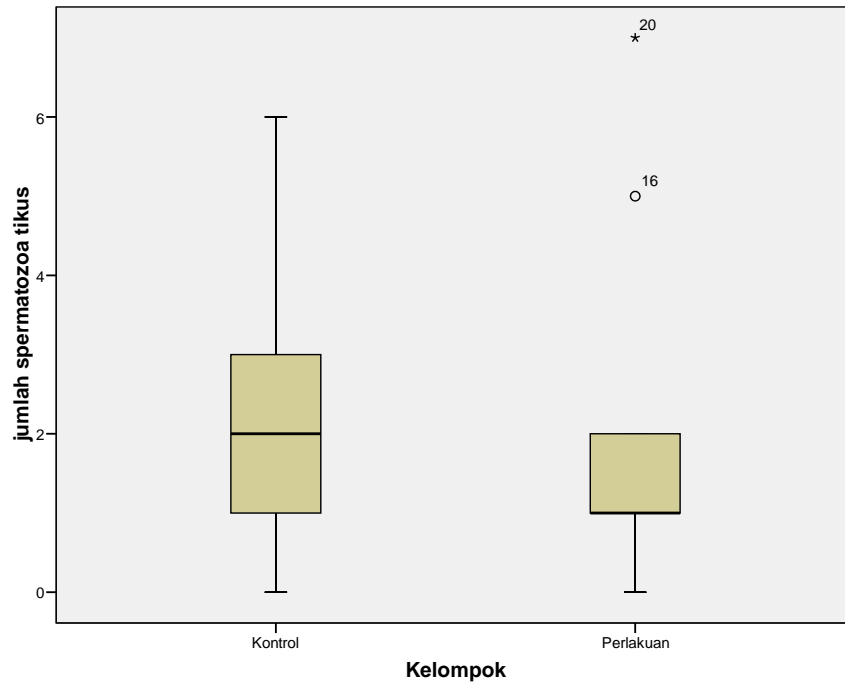
Kelompok			Statistic	Std. Error
jumlah spermatozoa tikus	Kontrol	Mean	2.09	.547
		95% Confidence Interval for Mean	.87	
		Lower Bound	3.31	
		Upper Bound		
		5% Trimmed Mean	1.99	
		Median	2.00	
		Variance	3.291	
		Std. Deviation	1.814	
		Minimum	0	
		Maximum	6	
		Range	6	
		Interquartile Range	2	
		Skewness	.942	.661
		Kurtosis	.753	1.279
	Perlakuan	Mean	1.91	.653
		95% Confidence Interval for Mean	.45	
		Lower Bound	3.36	
		Upper Bound		
		5% Trimmed Mean	1.73	
		Median	1.00	
		Variance	4.691	
		Std. Deviation	2.166	
		Minimum	0	
		Maximum	7	
		Range	7	
		Interquartile Range	1	
		Skewness	1.730	.661
		Kurtosis	2.440	1.279

Tests of Normality

Kelompok		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
jumlah spermatozoa tikus	Kontrol	.181	11	.200*	.917	11	.297
	Perlakuan	.301	11	.006	.754	11	.002

\*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction





## Mann-Whitney Test

**Ranks**

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
jumlah spermatozoa tikus	Kontrol	11	12.23	134.50
	Perlakuan	11	10.77	118.50
	Total	22		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	jumlah spermatozoa tikus
Mann-Whitney U	52.500
Wilcoxon W	118.500
Z	-.542
Asymp. Sig. (2-tailed)	.588
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.606 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

## Motilitas Spermatozoa Kriteria A

Case Processing Summary

		Cases					
		Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
motilitas spermatozoa kriteria A	Kontrol	11	100.0%	0	.0%	11	100.0%
	Perlakuan	11	100.0%	0	.0%	11	100.0%

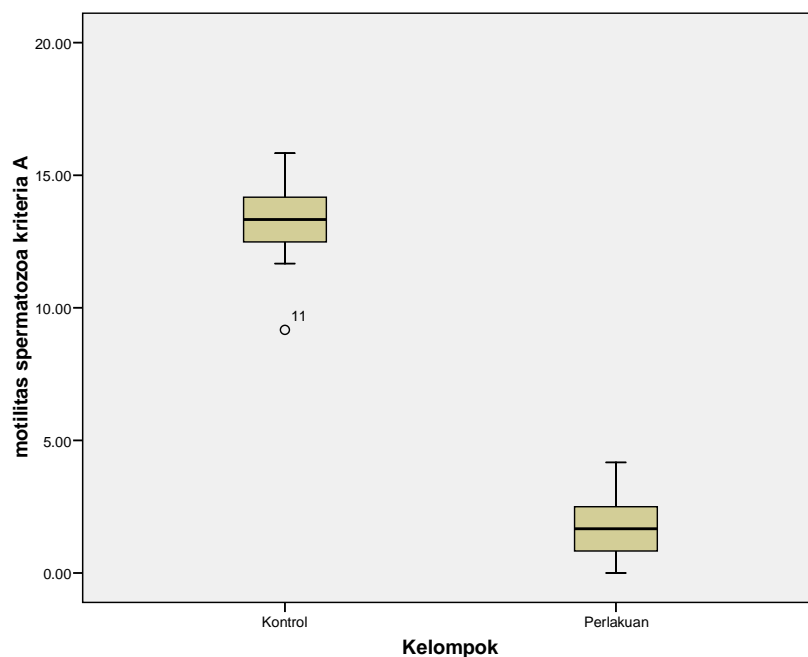
Descriptives

Kelompok				Statistic	Std. Error
motilitas spermatozoa kriteria A	Kontrol	Mean		13.3282	.58337
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	12.0284	
			Upper Bound	14.6280	
		5% Trimmed Mean		13.4202	
		Median		13.3300	
		Variance		3.744	
		Std. Deviation		1.93482	
		Minimum		9.17	
		Maximum		15.83	
		Range		6.66	
		Interquartile Range		2.50	
		Skewness		-.808	.661
		Kurtosis		.987	1.279
	Perlakuan	Mean		1.6664	.35583
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	.8735	
			Upper Bound	2.4592	
		5% Trimmed Mean		1.6198	
		Median		1.6700	
		Variance		1.393	
		Std. Deviation		1.18016	
		Minimum		.00	
		Maximum		4.17	
		Range		4.17	
		Interquartile Range		1.67	
		Skewness		.778	.661
		Kurtosis		.597	1.279

Tests of Normality

		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
motilitas spermatozoa kriteria A	Kontrol	.221	11	.138	.917	11	.295
	Perlakuan	.215	11	.164	.912	11	.258

a. Lilliefors Significance Correction



## T-Test

### Group Statistics

	Kelompok	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
motilitas spermatozoa kriteria A	Kontrol	11	13.3282	1.93482	.58337
	Perlakuan	11	1.6664	1.18016	.35583

### Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
motilitas spermatozoa kriteria A	Equal variances assumed	1.068	.314	17.066	20	.000	11.66182	.68333	10.23642	13.08722
	Equal variances not assumed			17.066	16.536	.000	11.66182	.68333	10.21703	13.10660

## Motilitas Spermatozoa Kriteria B

Case Processing Summary

		Cases					
		Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
motilitas spermatozoa ktiteria B	Kontrol	11	100.0%	0	.0%	11	100.0%
	Perlakuan	11	100.0%	0	.0%	11	100.0%

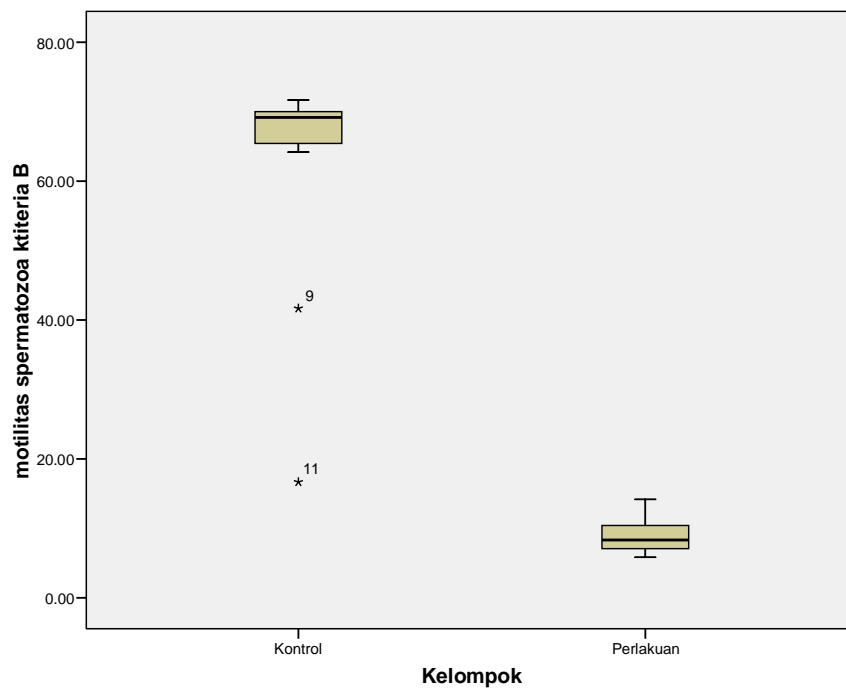
Descriptives

Kelompok				Statistic	Std. Error
motilitas spermatozoa ktiteria B	Kontrol	Mean		61.5927	5.16061
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	50.0942	
			Upper Bound	73.0913	
		5% Trimmed Mean		63.5286	
		Median		69.1700	
		Variance		292.951	
		Std. Deviation		17.11580	
		Minimum		16.67	
		Maximum		71.67	
		Range		55.00	
		Interquartile Range		5.83	
		Skewness		-2.298	
		Kurtosis		4.949	
	Perlakuan	Mean		9.0918	.88845
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	7.1122	
			Upper Bound	11.0714	
		5% Trimmed Mean		8.9909	
		Median		8.3300	
		Variance		8.683	
		Std. Deviation		2.94665	
		Minimum		5.83	
		Maximum		14.17	
		Range		8.34	
		Interquartile Range		5.00	
		Skewness		.989	
		Kurtosis		-.349	

Tests of Normality

		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
motilitas spermatozoa ktiteria B	Kontrol	.378	11	.000	.616	11	.000
	Perlakuan	.238	11	.081	.849	11	.041

a. Lilliefors Significance Correction



## Mann-Whitney Test

**Ranks**

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
motilitas spermatozoa ktiteria B	Kontrol	11	17.00	187.00
	Perlakuan	11	6.00	66.00
	Total	22		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	motilitas spermatozoa ktiteria B
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	66.000
Z	-3.983
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

## Motilitas Spermatozoa Kriteria C

Case Processing Summary

		Cases					
		Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
motilitas spermatozoa kriteria C	Kontrol	11	100.0%	0	.0%	11	100.0%
	Perlakuan	11	100.0%	0	.0%	11	100.0%

Descriptives

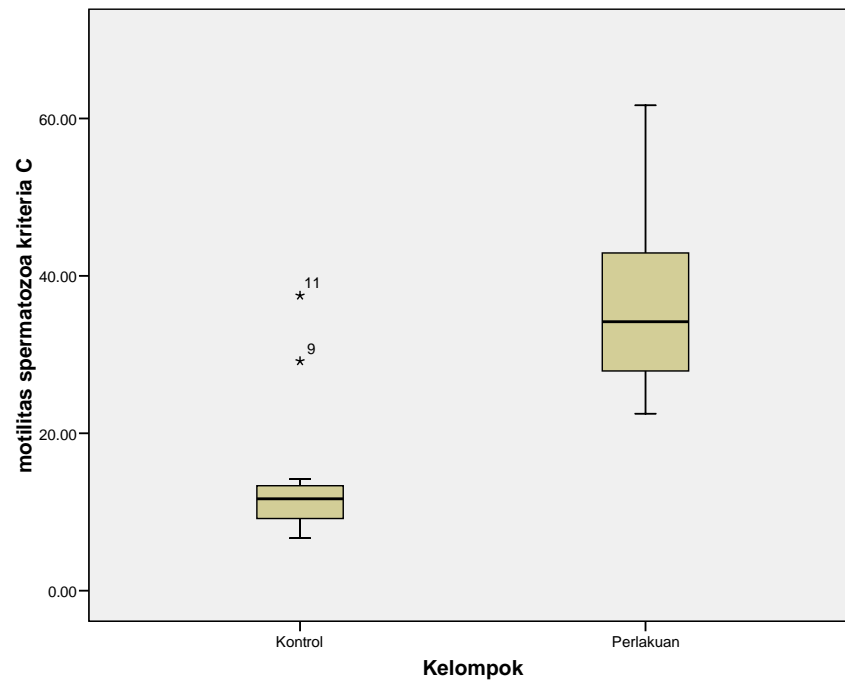
Kelompok				Statistic	Std. Error
motilitas spermatozoa kriteria C	Kontrol	Mean		14.5473	2.92444
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	8.0312	
			Upper Bound	21.0633	
		5% Trimmed Mean		13.7097	
		Median		11.6700	
		Variance		94.076	
		Std. Deviation		9.69926	
		Minimum		6.67	
		Maximum		37.50	
		Range		30.83	
		Interquartile Range		5.00	
		Skewness		1.879	.661
		Kurtosis		2.687	1.279
	Perlakuan	Mean		36.4400	3.58922
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	28.4427	
			Upper Bound	44.4373	
		5% Trimmed Mean		35.8128	
		Median		34.1700	
		Variance		141.707	
		Std. Deviation		11.90409	
		Minimum		22.50	
		Maximum		61.67	
		Range		39.17	
		Interquartile Range		19.17	
		Skewness		.934	.661
		Kurtosis		.473	1.279

Tests of Normality

Kelompok		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
motilitas spermatozoa kriteria C	Kontrol	.334	11	.001	.713	11	.001
	Perlakuan	.160	11	.200*	.930	11	.409

\*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction





## Mann-Whitney Test

**Ranks**

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
motilitas spermatozoa kriteria C	Kontrol	11	6.91	76.00
	Perlakuan	11	16.09	177.00
	Total	22		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	motilitas spermatozoa kriteria C
Mann-Whitney U	10.000
Wilcoxon W	76.000
Z	-3.319
Asymp. Sig. (2-tailed)	.001
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

## Motilitas Spermatozoa Kriteria D

### Case Processing Summary

		Cases					
		Valid		Missing		Total	
	Kelompok	N	Percent	N	Percent	N	Percent
motilitas spermatozoa kriteria D	Kontrol	11	100.0%	0	.0%	11	100.0%
	Perlakuan	11	100.0%	0	.0%	11	100.0%

### Descriptives

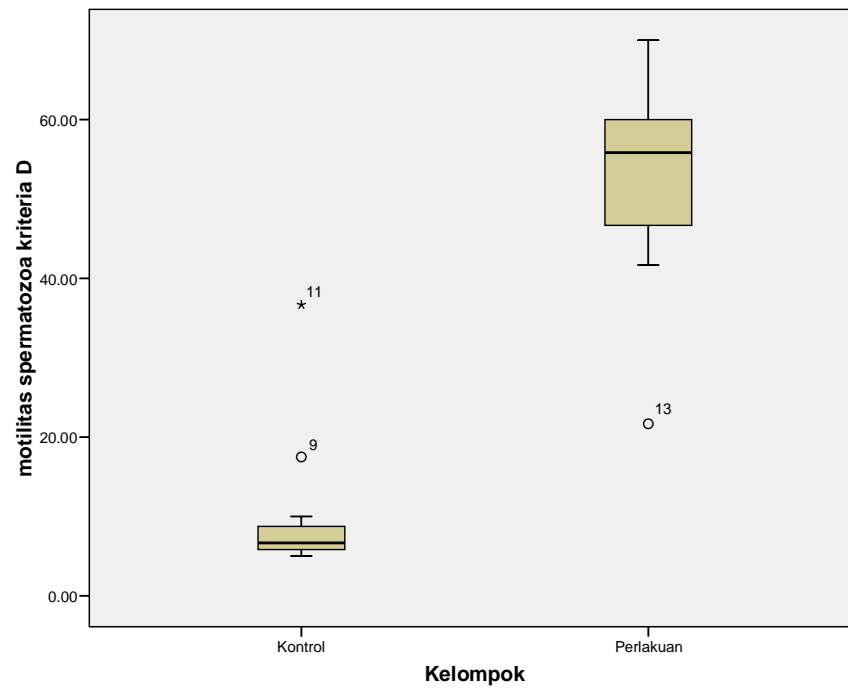
		Kelompok		Statistic	Std. Error
motilitas spermatozoa kriteria D	Kontrol	Mean		10.3027	2.84810
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	3.9568	
			Upper Bound	16.6487	
		5% Trimmed Mean		9.1325	
		Median		6.6700	
		Variance		89.229	
		Std. Deviation		9.44609	
		Minimum		5.00	
		Maximum		36.67	
		Range		31.67	
		Interquartile Range		4.17	
		Skewness		2.617	.661
		Kurtosis		7.096	1.279
	Perlakuan	Mean		52.8036	4.00278
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	43.8849	
			Upper Bound	61.7224	
		5% Trimmed Mean		53.5779	
		Median		55.8300	
		Variance		176.245	
		Std. Deviation		13.27572	
		Minimum		21.67	
		Maximum		70.00	
		Range		48.33	
		Interquartile Range		14.16	
		Skewness		-1.261	.661
		Kurtosis		2.173	1.279

### Tests of Normality

		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Kelompok	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
motilitas spermatozoa kriteria D	Kontrol	.344	11	.001	.602	11	.000
	Perlakuan	.202	11	.200*	.909	11	.237

\*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction



## Mann-Whitney Test

**Ranks**

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
motilitas spermatozoa kriteria D	Kontrol	11	6.09	67.00
	Perlakuan	11	16.91	186.00
	Total	22		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	motilitas spermatozoa kriteria D
Mann-Whitney U	1.000
Wilcoxon W	67.000
Z	-3.915
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

## Morfologi Spermatozoa

**Case Processing Summary**

		Cases					
		Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
morfologi	Kontrol	11	100.0%	0	.0%	11	100.0%
spermatozoa tikus	Perlakuan	11	100.0%	0	.0%	11	100.0%

**Descriptives**

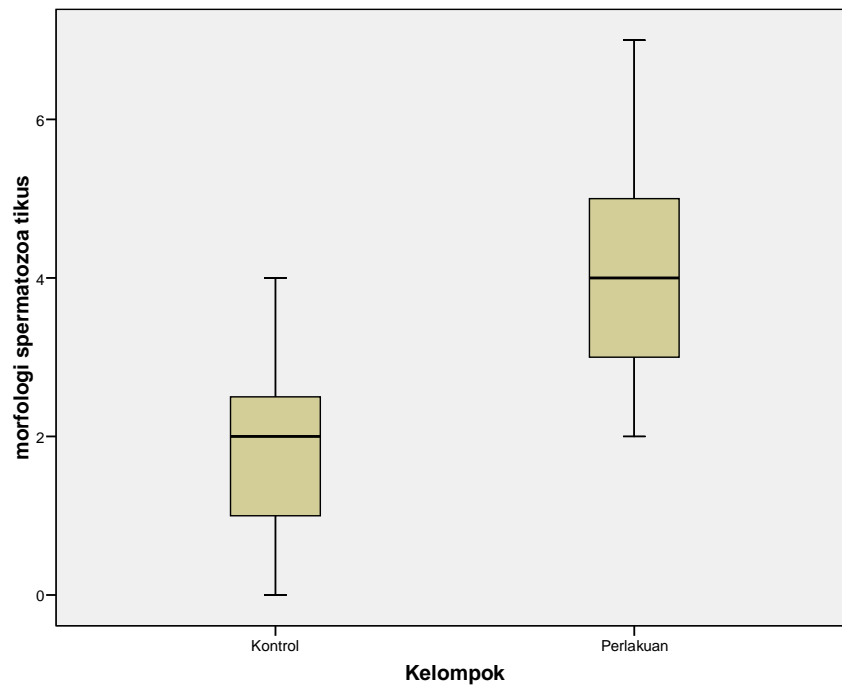
Kelompok				Statistic	Std. Error
morfologi spermatozoa tikus	Kontrol	Mean		1.82	.423
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	.88	
			Upper Bound	2.76	
		5% Trimmed Mean		1.80	
		Median		2.00	
		Variance		1.964	
		Std. Deviation		1.401	
		Minimum		0	
		Maximum		4	
		Range		4	
		Interquartile Range		2	
		Skewness		.390	.661
		Kurtosis		-.816	1.279
	Perlakuan	Mean		4.09	.456
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	3.07	
			Upper Bound	5.11	
		5% Trimmed Mean		4.05	
		Median		4.00	
		Variance		2.291	
		Std. Deviation		1.514	
		Minimum		2	
		Maximum		7	
		Range		5	
		Interquartile Range		2	
		Skewness		.661	.661
		Kurtosis		-.288	1.279

**Tests of Normality**

Kelompok		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
morfologi	Kontrol	.176	11	.200*	.912	11	.256
spermatozoa tikus	Perlakuan	.219	11	.146	.925	11	.361

\*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction



## T-Test

### Group Statistics

	Kelompok	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
morfologi spermatozoa tikus	Kontrol	11	1.82	1.401	.423
	Perlakuan	11	4.09	1.514	.456

### Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
morfologi spermatozoa tikus	Equal variances assumed	.083	.776	-3.654	20	.002	-2.273	.622	-3.570	-.975
	Equal variances not assumed			-3.654	19.882	.002	-2.273	.622	-3.571	-.975